



SÍNDROME X FRÁGIL DE ARGENTINA

AGRUPACIÓN DE PADRES

SFX 17

**SÍNDROME X FRÁGIL:
Menopausia precoz,
Diagnóstico preimplantacional y
preconcepcional**

M. Milá - J. Mallolas

REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S 20-S 23

(2001)

SECRETARÍA

Tel: (011) 4313-1846 - E-mail: contacto@xfragil.com.ar

<http://www.xfragil.com.ar>

OBJETIVO

El presente trabajo consta de dos partes totalmente independientes. En primer lugar se presenta una breve revisión de la relación del síndrome del cromosoma X frágil (SFX) con la menopausia precoz y luego, en un segundo apartado, se revisa brevemente la situación actual del diagnóstico preimplantacional y preconcepcional para este síndrome. Por tanto, este capítulo se dedica a las mujeres portadoras tanto de la premutación como de la mutación completa.

DESARROLLO

Fallo ovárico prematuro, menopausia precoz

El fallo ovárico prematuro (FOP) se define como un defecto del desarrollo del ovario caracterizado por niveles elevados en suero de gonadotropinas y bajas de estrógenos o menopausia antes de los 40 años [1]. La edad habitual de la menopausia en nuestra población se sitúa alrededor de los 50 años; por tanto si se presenta antes de los 40 años, se considera una menopausia precoz. Su incidencia en la población general oscila alrededor del 1% [2]. Es una alteración muy heterogénea de la que se conocen formas de origen cromosómico, génico, enzimático, infeccioso, yatrogénico, idiopático y autoinmune.

No obstante, un tercio de los casos son familiares, lo que sugiere una base genética. Actualmente se relacionan 8 genes con esta patología [3]. Uno de ellos es el gen *FMR1* (*Fragile X Mental Retardation 1*, FRAXA) responsable del SFX [4]. Concretamente se relaciona con las mujeres portadoras de la premutación.

Si bien se acepta que las mujeres portadoras de la premutación (entre 52 y 200 repeticiones CGG) [5] sintetizan proteína FMRP en cantidades normales y, por tanto, no manifiestan ningún rasgo clínico para el SFX, desde 1995 algunos estudios ponen de manifiesto que el FOP tiene una incidencia más elevada en esas mujeres que en la población general [6].

La incidencia del FOP en la población general es del 1%, a diferencia de lo que sucede entre las familias con SFX, concretamente entre las mujeres portadoras de premutación en el gen *FMR1*, donde se estima entre el 10 y el 20% según diferentes estudios, es decir, entre 10 y 20 veces los de la población general [4,7-9]. Según nuestros datos, en la población española la incidencia es del 12,2% (12/98) [10,11].

La incidencia de **mujeres portadoras** del SFX en la población general es de **1 por 246** mujeres [12] (0,4%). Nuestros resultados muestran que la incidencia de la premutación en la serie de mujeres con FOP es de 4,4%, por lo que la incidencia de premutación en el gen *FMR1* es unas 11 veces superior que la estimada en la población general [10,11].

Estos datos concuerdan con otros estudios realizados en poblaciones europeas [4], que encuentran un 4% (6/147). Sin embargo, cuando se estudia a mujeres portadoras de la mutación completa, no se observa relación entre FOP y SFX. Se desconoce la razón de la asociación existente entre la premutación en el gen *FMR1* y el FOP. Algunos autores han intentado relacionarlo con una reducción del número inicial de oocitos, ya que estudios en murinos muestran que el gen *FMR1* se expresa muy intensamente durante la ovogénesis y que los cambios inducidos en esta expresión reducen el número de oocitos [13]. Otros autores lo relacionan con ovulaciones múltiples [14] en las portadoras de la premutación.

En nuestra serie, la incidencia de gemelos dicigóticos fue de 4,4% (2/45), mientras que en la población general se calcula en 1-2%, por lo que no podemos descartar completamente esta hipótesis.

Creemos que, mientras se desconozca la relación existente entre FOP y premutación en el gen *FMR1*, debe informarse a toda mujer portadora de la premutación en el gen *FMR1* que tiene una probabilidad superior a la de la población general (unas 10-15 veces) de tener menopausia antes de los 40 años y, por tanto, su edad reproductiva finalizará prematuramente y debería programar su descendencia antes de los 30-35 años de edad.

También es aconsejable solicitar el estudio de la zona repetitiva CGG del gen *FMR1* a las mujeres que consultan por FOP, bien se trate de una forma familiar o de un caso esporádico, tanto si desean descendencia como si ya la tienen.

Diagnóstico preimplantacional y preconcepcional

Ante todo haremos una breve revisión del consejo genético en el SFX, de manera que podamos seleccionar qué miembros de una familia tienen riesgo para su descendencia respecto a esta patología.

Debe aceptarse que, en el 98% de los casos, la mutación es la expansión del triplete CGG en el gen *FMR1*. Ningún individuo, ya sea varón o mujer, con resultado normal en el estudio molecular de la zona repetitiva CGG del gen *FMR1*, tiene riesgo de transmitir esta patología a su descendencia. Por este motivo no se indica tipo alguno de diagnóstico para su descendencia respecto del SFX.

Si el estudio molecular indica un varón portador de la premutación o sea un varón transmisor normal (NTM) (52-199 CGG), todas sus hijas serán portadoras sanas, siempre en estado de premutación, y no manifestarán la enfermedad. Todos sus hijos varones serán no portadores completamente sanos. Por tanto, no se indica tipo alguno de diagnóstico para su descendencia con respecto al SFX.

En la mujer portadora de una premutación, el 50% de sus hijos varones heredarán el alelo de riesgo. Si heredan la mutación completa estarán afectados, y si se mantiene la premutación serán NTM. El otro 50% heredará el alelo sano y serán completamente sanos no portadores. Respecto a las hijas, el 50% serán portadoras de una premutación o una mutación completa, según el tamaño de la expansión, y el otro 50% de las hijas serán sanas no portadoras. En este caso sería aconsejable realizar un diagnóstico prenatal, preimplantacional o preconcepcional.

Para las mujeres portadoras de la mutación completa, el riesgo es igual al caso anterior, pero la penetrancia del gen es del 100%, por lo que resulta prácticamente imposible la aparición de hijos varones NTM y de hijas premutadas. Todo individuo que herede el alelo de riesgo hereda la mutación completa, por lo que si es varón, estará afectado, y si es mujer, dependerá de la inactivación del cromosoma X. En este caso estaría indicado realizar un diagnóstico prenatal, preimplantacional o preconcepcional.

En el caso de los varones afectos, toda su descendencia masculina será completamente normal, y toda la femenina, portadora de premutación y sana. En conclusión, ningún miembro de su descendencia manifestará el síndrome y, por tanto, no se indican pruebas para su descendencia.

El riesgo de retraso mental se relaciona con la posición que ocupa el individuo en el árbol genealógico, de manera que la mutación crece a través de las generaciones. La premutación puede mantenerse durante varias generaciones, o bien pasar a mutación completa en una sola generación, pero el cambio siempre ocurre cuando pasa a través de una mujer.

En las mujeres portadoras de la premutación (50-200 CGG), el riesgo de expandir el alelo premutado (52 y 90 CGG) a mutación completa (>200 CGG) depende del número de repeticiones. A partir de 90 CGG siempre habrá expansión a mutación completa en la siguiente generación (Tabla).

Tabla. Riesgo de expansión de premutación a mutación completa de una mujer portadora según su número de repeticiones CGG.

<u>Número de CGG</u>	<u>% Riesgo</u>
52-60	<1%
61-70	17%
71-80	71%
81-90	86%
>91	>99%

Este riesgo, evidentemente, se considera muy elevado. Por tanto, a estas mujeres se les debe dar a conocer sus opciones reproductoras para permitirles elegir entre ellas. Estas opciones, actualmente, consisten en: no tener descendencia, adopción, donación de óvulos, diagnóstico prenatal, diagnóstico genético preimplantacional o diagnóstico genético preconcepcional.

El diagnóstico genético preimplantacional (DGP) es una técnica diagnóstica basada en el análisis genético de un embrión obtenido por fecundación *in vitro* (FIV) y la posterior transferencia de aquellos embriones genéticamente sanos y viables [15]. Es decir, se realiza el estudio genético del embrión antes de transferirlo al útero materno, y sólo se transfieren o implantan aquellos embriones que no presenten la anomalía estudiada.

En general, las enfermedades que pueden incluirse en este tipo de estudio son las que presentan un alto riesgo de transmisión, como es el caso del SFX, y previamente es necesario haber realizado el estudio molecular de la madre. La metodología del DGP se basa en una FIV a partir de un oocito de la madre, y mediante microinyección (ICSI) para evitar contaminaciones será fecundado por un espermatozoide del padre. De esta forma obtendremos un embrión y cuando éste tenga entre seis y ocho células, extraeremos una o dos células mediante una micropipeta. Con estas células se efectúa el diagnóstico genético [16]. Este proceso se realiza con varios embriones a la vez; los embriones que no presenten la mutación se implantarán en el útero materno. El análisis genético se realiza en 24 horas para que los embriones puedan transferirse.

El estudio genético resulta particularmente difícil en el SFX por varias razones. Cuando se realiza un diagnóstico posnatal o prenatal se hace un estudio directo, analizando la expansión CGG en el gen *FMR1* mediante PCR (del inglés, *polimerase chain reaction*) y Southern.

Sin embargo, la técnica de PCR, que se utiliza para determinar el número exacto de repeticiones, resulta complicada cuando hay repeticiones CGG porque los alelos demasiado grandes se amplifican mal o no se amplifican por completo (ADO, del inglés, *allele dropout*) lo que origina posibles falsos negativos. La mutación de la isla CpG del promotor del gen *FMR1* no puede estudiarse por PCR, y la técnica de Southern, que sí permite su estudio, precisa de mg de ADN, y por tanto no puede aplicarse por la pequeña cantidad de material de que disponemos (una o dos células) [17]. El diagnóstico directo sólo puede hacerse por medio de PCR detectando el alelo no expandido de la madre. En caso de no amplificar el alelo materno, daremos por supuesto que se trata del expandido [18].

Estas dificultades técnicas en el diagnóstico directo hacen necesario recurrir en la mayoría de los casos al diagnóstico indirecto [19], realizando un ligamiento con marcadores microsatélites altamente polimórficos. Preferentemente utilizaremos marcadores intragénicos o muy cercanos al gen *FMR1* con el fin de poder identificar el cromosoma X que lleva el gen mutado y comprobar si se trata del que ha heredado el embrión. En este caso no se llega a ver la mutación, sino que se identifica el alelo de riesgo sin distinguir entre premutación y mutación completa. Para este estudio se requiere un estudio familiar previo completo: madre, padre y algún familiar afectado. Simultáneamente al estudio del SFX ha de efectuarse el estudio de sexo [20]. Al combinar varios marcadores, la probabilidad de error por ADO se reduce considerablemente. En la actualidad, la utilización del marcaje fluorescente de los marcadores mejora considerablemente la eficacia de la PCR y reduce el ADO [21].

Este tipo de diagnóstico tiene una serie de ventajas evidentes sobre el diagnóstico prenatal, puesto que se realiza sobre el embrión, evitando el estrés, el trauma emocional y la interrupción voluntaria del embarazo (IVE). Mediante este tipo de diagnóstico se podría llegar a reducir la incidencia del SFX, ya que los portadores, tanto hombres como mujeres, no se implantan.

También hay que señalar otros inconvenientes, además de los técnicos mencionados con anterioridad: existe la necesidad de recurrir a una FIV en parejas fértiles. Tan sólo el 30% de las transferencias evolucionan, y antes de transferir un embrión sano es necesario pasar por el proceso de fertilización y correcto desarrollo del embrión, por lo que el porcentaje de éxito es menor que el que tendría esta pareja en condiciones normales de reproducción.

Las primeras publicaciones datan de 1989 [22,23] y durante la década de los años noventa se ha mejorado paulatinamente a medida que los profesionales han adquirido cada vez mayor experiencia. Así, se ha pasado de un 12% de éxitos a casi un 30% desde el año 1997 hasta la actualidad [24], y es de esperar que esta cifra de éxitos siga aumentando.

También pueden citarse problemas éticos, morales y religiosos, ya que la célula que se extrae para su estudio, por sí misma, podría evolucionar a un feto si se implantara. Las células fertilizadas (embriones) que no se implantan se destruyen, y los portadores de ambos sexos asintomáticos en principio no se implantan. Si el FOP implica un número de oocitos menor y en las mujeres con premutación hay una incidencia mayor de FOP cabe esperar que en estas mujeres una FIV sea más difícil de realizar con éxito. Un número reducido de oocitos o una baja respuesta a la estimulación implica una dificultad añadida a FIV. Otra opción es el diagnóstico genético preconcepcional, técnica diagnóstica basada

en el estudio genético del óvulo antes de la fertilización y la posterior FIV de los óvulos sanos.

La estrategia se basa en la utilización del corpúsculo polar. Durante la ovogénesis, uno de los cromosomas X de la mujer va al corpúsculo polar, y el otro, al óvulo. Por tanto, cuando se detecte la mutación en el corpúsculo, el óvulo está libre de ella, y viceversa. Así, tan sólo los óvulos sanos serán los que se someterán a la FIV. La tecnología utilizada para el estudio genético es similar y las ventajas que presenta este procedimiento –que como en el caso anterior evita el estrés, el trauma emocional y el dilema moral de la IVE– consisten en que, al no extraerse célula alguna del embrión para el estudio, no se desecha ninguna célula capaz de evolucionar en un feto, ni se destruye ninguna célula fertilizada.

Otra ventaja es que, en caso de fallo, da pie a una segunda opción para realizar un DGP. No obstante, también conlleva los mismos inconvenientes, como la necesidad de recurrir a una FIV en parejas fértiles y las limitaciones propias de la técnica como en el caso anterior.

Así pues, estas dos técnicas son la alternativa al diagnóstico genético prenatal. Los centros que ofrecían estas técnicas en el año 2000 eran unos 40 [25], y el número va en aumento día a día, aunque las posibilidades que se ofrecen dependen de la experiencia de cada grupo en las distintas patologías.

CONCLUSIONES

Debe informarse a toda mujer portadora de la premutación en el gen *FMR1* de que posee una probabilidad superior a la de la población general (unas 10-15 veces) de tener la menopausia antes de los 40 años; por tanto, ha de programar su descendencia antes de los 30- 35 años, ya que su capacidad reproductora finalizará antes de tiempo.

Resulta aconsejable solicitar el estudio de la zona repetitiva CGG del gen *FMR1* a las mujeres que asisten a consulta por FOP, ya se trate de una forma familiar o de un caso esporádico, independientemente de que deseen descendencia o de que ya la tengan.

El diagnóstico genético preimplantacional y preconcepcional constituye una alternativa real al diagnóstico prenatal y, como ha ocurrido con todas las técnicas, mejorará su eficacia y se convertirá en una técnica asequible para las familias con SFX que deseen beneficiarse de ella.

BIBLIOGRAFÍA

1. Davis RS. Premature ovarian failure. *Maturitas* 1996; 23: 1-8.
2. Coulam CB, Adamson SC, Annerggers JF. Incidence of premature ovarian failure. *Obstet Gynecol* 1986; 67: 604-6.
3. Sala C, Arrigo G, Torri G, Martinazzi F, Riva P, Larizza L, et al. Eleven X chromosome breakpoints associated with premature ovarian failure (POF) map to a 15-Mb YAC contig spanning Xq21. *Genomics* 1997; 40: 123-31.
4. Murray A, Webb J, Grimley S, Conway G, Jacobs P. Studies of FRAXA and FRAXE in women with premature ovarian failure. *J Med Genet* 1998; 35: 637-40.
5. Milà M, Kruyer H, Glover G, Sánchez A, Carbonell P, Castellví-Bell S, et al. Molecular analysis of the (CGG)_n expansion in the *FMR1* gene in 59 Spanish fragile X syndrome families. *Hum Genet* 1994; 94: 395-400.
6. Conway GS, Hettiarachchi S, Murray A, Jacobs PA. Fragile X permutations in familial premature ovarian failure. *Lancet* 1995; 346: 309-10.
7. Allingham-Hawkins DJ, Babul-Hirji R, Chitayat D, Holden JJ, Yang KT, Lee C, et al. Fragile X premutation is a significant risk factor for premature ovarian failure: the International Collaborative POF in Fragile X

- studypreliminary data. *Am J Med Genet* 1999; 83: 322-5.
8. Uzielli ML, Guarducci S, Lapi E, Cecconi A, Ricci U, Ricotti G, et al. Premature Ovarian Failure (POF) and Fragile X Premutation Females: from POF to fragile X Carrier Identification, From Fragile X carrier to POF Association Data. *Am J Med Genet* 1999; 84: 300-3.
 9. Marozzi A, Vegetti W, Manfredini E, Tibiletti MG, Testa G, Crosignani PG, et al. Association between idiopathic premature ovarian failure and fragile X premutation. *Hum Reprod* 2000; 15: 197-202.
 10. Mallolas J, Durán M, Sánchez A, Jiménez D, Castellví S, Rifé M, et al. Implications of the *FMR1* gene in menopause: study of 147 Spanish women. *Menopause* 2001; 8: 106-10.
 11. Durán M, Mallolas J, Rifé M, Castellví S, Jiménez D, Sánchez A, et al. Elevada incidencia de premutaciones en el gen *FMR1* en mujeres españolas con fallo ovárico prematuro. *Prog Obstet Ginecol* 2001. [En prensa]
 12. Ryyanen M, Heinonen S, Makkonen M, Kajanoja E, Mannermaa A, Pertti K. Feasibility and acceptance of screening for fragile X mutations in low-risk pregnancies. *Eur J Hum Genet* 1999; 7: 212-6.
 13. Bachner D, Manca A, Steinbach P, Wohrle D, Just W, Vogel W, et al. Enhanced expression of the murine *FMR1* gene during germ cell proliferation suggests a special function in both male and female gonads. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 2043-50.
 14. Turner G, Robinson H, Wake S, Martin N. Dizygous twinning and premature menopause in fragile X syndrome. *Lancet* 1994; 344: 1500.
 15. Wells D. Preimplantation genetic diagnosis (PGD). *Prenat Diagn* 1999; 13: 1190-2.
 16. Harper JC, Wells D. Recent advances and future developments in PGD. *Prenat Diagn* 1999; 13: 1193-9.
 17. Van de Velde H, De Vos A, Sermon K, Staessen C, de Rycke M, van Assche E, et al. Embryo implantation after biopsy one or two cells from cleavage-stage embryos with a view to preimplantation genetic diagnosis. *Prenat Diagn* 2000; 20: 1030-7.
 18. Sermon K, Seneca A, Vanderfaeillie A, Lissens W, Joris H, Vandervorst M et al. Preimplantation Diagnosis of Fragile X Syndrome based on the detection of the non-expanded paternal and maternal CGG. *Prenat Diagn* 1999; 13: 1223-30.
 19. Apessos A, Abou-Sleiman PM, Harper JC, Delhanty DA. Preimplantation genetic diagnosis of the fragile X syndrome by use of linked polymorphic markers. *Prenat Diagn* 2001; 21: 504-11.
 20. Ray PF, Vekemans M, Munnich A. Single cell multiplex PCR amplification of five dystrophin exons combined with gender determination. *Mol. Hum Reprod* 2001; 7: 489-94.
 21. Findlay I, Matthews P, Quirke P. Preimplantation genetic diagnosis using fluorescent polymerase chain reaction: results and future developments. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16: 199-206.
 22. Conn CM, Harper JC, Winston RML, Delhanty JDA. Infertile couples with Robertsonian translocations preimplantation genetic analysis of embryos reveals chaotic cleavage divisions. *Hum Genet* 1998; 102: 117-23.
 23. Munné S, Márquez C, Magli C, Morton P, Morrison L. Scoring criteria for preimplantation genetic diagnosis of numerical anomalies for chromosomes X, Y, 13, 16, 18 and 21. *Mol. Hum Reprod* 1998; 4: 863-70.
 24. Geraedts J, Handyside A, Harper J, Liebaers I, Sermon K, Staessen C. ESHRE preimplantation genetic diagnosis (PGD) consortium collection II May 2000. *Hum Reprod* 2000; 15: 2673-83.
 25. Delhanty JDA, Harper JC. Pre-implantation genetic diagnosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000; 14: 691-708.